

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ «ЧЕРНЫХ ДРОЖЖЕЙ» В ТОКСИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

В. В. ПАВЛЕНКО, В. И. ЧЕМЕРИЛОВА, В. М. ХАРЛАМОВ

Увеличение загрязнения водной среды различными химическими агентами, вызванное производственной деятельностью человека, выдвигает на первый план задачу выявления мутагенов среди них, изучение молекулярно-генетических механизмов их действия и прогноза генетических и биологических последствий загрязнения для экосистем водоемов.

С целью выявления и оценки токсичного и мутагенного действия разного рода антропогенных факторов в последнее время широко используются модели, разработанные на прокариотических и эукариотических организмах [14, 1]. Представителями последних являются, в частности, штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [4]. Выбор дрожжей для создания таких моделей объясняется широкой распространенностью этих микроорганизмов, простотой выделения и культивирования их в лабораторных условиях, сравнительно несложной организацией и многосторонней изученностью.

Однако всегда остается сомнение в правомерности экстраполяции данных, полученных на лабораторных объектах, на природные популяции. В этом плане необходимо разрабатывать модели с использованием объектов с разной чувствительностью к действию загрязнителей, чтобы в дальнейшем сравнить характер действия антропогенных факторов на микроорганизм из естественного водоема и лабораторные штаммы.

Целью настоящего исследования явилось выделение из микрофлоры оз. Байкал дрожжеподобного микроорганизма и выяснение возможности его использования в качестве модели для оценки токсичного и мутагенного действия антропогенных факторов, в частности сточных вод сульфат-целлюлозного производства.

Материалы и методы. Выделяли природные гидробионты из проб объемом 1,5 л, взятых в поверхностном слое в 5 м от берега в районе г. Байкальска. Пробы фильтровали через мембранные фильтры Siproг № 6. Смывы с фильтров помещали в жидкую среду ФДАГ (глюкозо-минеральная с добавкой дрожжевого автолиза). Через 5—6 суток инкубировали при температуре 8—12°C. Полученную суспензию высевали на твердую среду ФДГА (глюкозо-минеральная с добавкой дрожжевого автолизата и агара), культивировали при той же температуре до появления видимых колоний. Отдельные клетки изолировали при помощи микроманипулятора ММ-1 и путем посева разведенной суспензии. Клоны, выделенные с помощью микроманипулятора, обозначены в дальнейшем знаком М, а клоны, выделенные методом посева через суспензию, знаком В. Культуральная и биохимическая характеристика выделенных клонов проведена сотрудниками лаборатории экологии Лимнологического института СО АН СССР Т. А. Земской по методике, принятой в систематике дрожжевых микроорганизмов.

При сравнительном исследовании действия мутагена нитрозометилмочевны (N-НММ) и нативных протестов Байкальского ЦБК использовали штаммы 15В-П4 *Saccharomyces cerevisiae* из Петергофской генетической коллекции дрожжей [5] R—11—один из клонов, полученный нами из природной популяции микрофлоры оз. Байкал и отличающийся от других клонов повышенной чувствительностью к фенолам.

Штаммы выращивали на твердой среде УЕР, содержащей на

1000 мл дистиллированной воды 20 г глюкозы, 10 г пентона, 5 г сухого дрожжевого экстракта и 15 г агар-агара.

Обработку клеток мутагеном N-НММ проводили по следующей методике. Готовили суспензию 2—4-суточной культуры с концентрацией клеток $1 \cdot 10^6$ кл/мл. Титр проверяли с помощью камеры Горяева. По 1 мл суспензии вносили в пробирки с равным объемом водных растворов мутагена с концентрацией 20, 200, 2000 мг/л (конечная концентрация мутагена, таким образом, равнялась 10, 100 и 1000 мг/л). Полученные смеси выдерживали в течение 3 ч при постоянном взбалтывании. Эффективную дозу мутагена снимали разведением в 1000 раз дистиллированной водой. Из каждой пробы высевали по небольшому объему суспензии на 10 чашек с твердой средой УЕР так, чтобы на чашку приходилось не более 300 клеток. Выживаемость рассчитывали по общепринятой формуле [3]: $x = \frac{n}{N} \cdot 100\%$, где x — выживаемость, n — среднее число колоний на чашку в опыте и N — среднее число колоний на чашку в контроле.

Обработку промстоками, которые во всех случаях стерилизовали при помощи стерилизующих фильтров, проводили по двум методикам. В первом случае суспензию 2—4-суточной культуры экспонировали в нативных промстоках ($C = 1 \cdot 10^6$) в течение 3 ч. Затем обработанные клетки высевали на твердую среду УЕР и культивировали при температуре 28°C до появления видимых колоний. В контроле клетки выдерживали в воде в течение того же времени, что и в опыте, и далее высевали в стандартные условия.

Во втором случае, 2—4-суточную культуру суспензировали в 5 мл дистиллированной воды и после тщательного перемешивания по 0,5 мл этой суспензии переносили в три одинаковых сосуда с 20 мл жидкой среды УЕР (положительный контроль), дистиллированной воды (нулевой контроль) и нативных промстоков (опытный вариант). Исходная плотность культуры составляла примерно $0,3\text{--}0,6 \cdot 10^5$ кл/мл. Опытные и контрольные варианты культивировали в темноте при 28°C при постоянном перемешивании на качалке в течение 6 сут. В начале опыта и далее через каждые 24 ч небольшой объем суспензии клеток высевали на твердую среду УЕР для учета числа жизнеспособных клеток, которое соответствовало числу сформированных колоний на твердой среде УЕР. Средние величины числа клеток в культуре рассчитывали по трем независимым повторностям опыта. Для культур, содержащихся в промстоках, расчет вели отдельно для каждой повторности, ввиду того, что пробы, взятые в разные сроки, могли различаться по составу. Время удвоения культур рассчитывали по формуле [12]:

$$g = \frac{t_2 - t_1}{3,32(\log X_2 - \log X_1)},$$

где g — время удвоения, X_1 — концентрация клеток в момент t_1 , X_2 — концентрация клеток в момент t_2 .

Для построения графиков рассчитывали логарифм прироста числа клеток во времени. Выравнивание кривых проводили согласно методу взвешенной средней [9].

О мутагенном действии судили по появлению в опыте колоний с изменением морфологии, пигментации и биохимических признаков. Изменение морфологических признаков культур регистрировали с помощью микроскопа МБС-1. Для выявления ауксотрофных мутантов использовали метод отпечатков на селективные среды. В качестве последних использовали среды: минимальную, содержащую глюкозу и соли, и УЕР, в которой глюкоза была заменена этиловым спиртом.

Результаты и обсуждение. Выделение «черных дрожжей» и их характеристика. В результате анализа проб байкальской воды выделены колонии разнообразных бактерий, нитчатых водорослей и колонии дрожжеподобных микроорганизмов, имеющих черную окраску. Наиболее интересным объектом для нашего исследования оказались колонии дрожжей. Они не были загрязнены бактериями, и это позволило выделить чистые культуры без применения антибиотиков. Каждый из 10 клонов, взятых для исследования, характеризуется значительным полиморфизмом: наряду с овальными дрожжеподобными клетками разного размера, размножающимися почкованием, имеются удлиненные мицелиальные клетки, образующие при делении длинные нити или пучки нитей. Соотношение типов клеток в популяциях различных клонов варьирует. Выросшие на ацетатных средах клетки образуют включения, напоминающие споры у спорообразующих дрожжей. Эти включения занимают почти все пространство внутри клетки: в продолговатых клетках они могут быть расположены упорядоченно, в округлых — скученно, образуя шаровидные упаковки. Число таких образований колеблется от 1 у мелких клеток до 5—6 у более крупных. Обычный тип колоний выделенных клонов — крупные, гладкие, блестящие, черного цвета. При старении колонии на верхней части или по краю ее появляется слабо развитый воздушный мицелий. Гладкая часть колонии приобретает металлический блеск.

Таблица 1

Культуральные и биохимические свойства выделенных клонов «черных дрожжей»

Штамм	Анализ колоний: форма, окраска, блеск	Спорообразование		Ассимиляция источников азота		Рост при температуре 37°С	Ассимиляция источников углерода						Ферментация		Температура роста
		Городковая	Морковная	KNO_3	NaNO_2		глюкоза	глицерин	я. кислота	лактоза	манноза	рафиноза	глюкоза	сахароза	
R-2	—	—	—	+	Сл.	Сл.	+	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	+
R-6	—	—	—	+	Сл.	Ок.	+	+	Сл.	—	—	Сл.	—	—	Сл.
R-7	—	—	—	+	Сл.	Сл.	+	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	—
R-11	—	—	—	+	Сл.	—	+	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	—
R-15	—	—	—	+	Сл.	Сл.	+	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	—
M-2	—	—	—	+	Сл.	Сл.	+	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	+
M-7	—	—	—	+	Сл.	—	+	+	Сл.	—	—	Сл.	—	—	—
M-10	—	—	—	+	Сл.	Сл.	+	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	+
M-22	—	—	—	+	Сл.	Сл.	Ок.	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	+
M-23	—	—	—	+	Сл.	Сл.	Ок.	+	Сл.	—	+	Сл.	—	—	+

Примечание. «+» — хороший рост, «—» — отсутствие роста, «Сл.» — слабый рост, «Ок.» — отдельные колонии.

Результаты исследования культуральных и биохимических свойств клонов представлены в табл. 1. На сусло-агаре дрожжи дают обильный рост, штрих — прямой, профиль — выпуклый, край — ровный, цвет — черный. На 3-й день в жидком сусле культуры образуют неясную пленку, кольца нет или оно частичное. Образуют осадок на стенках пробирки, муть нет. На 5-е сутки кольцо очень толстое, пленка толстая, муть, осадок. На среде Городковой и на морковной спорообразования не происходило. В качестве источника азота все культуры используют KNO_3 . На среде без витаминов они растут очень слабо или совсем не растут. На них угнетающее действует повышение температуры до 37° С. В качестве источников углерода клоны используют глюкозу, сахарозу, мальтозу, в меньшей степени галактозу и рафинозу. Совсем не растут на

среде с лактозой. На минимальной среде рост обильный, но колонии не образуют черного пигмента в темноте и имеют зеленовато-серый цвет. При длительном выдерживании на рассеянном свете колонии чернеют начиная с края. На среде УЕР без глюкозы пигмент образуется, но воздушный мицелий не появляется. Почти все клоны оказались устойчивыми к хроническому действию фенола в концентрации 300 мг/л. Среди проверенных клонов три имеют индивидуальные отличия. Клон R-7 хорошо растет на среде без витаминов, М-10 устойчив к температуре 37°C, а R-11 оказался чувствительным к действию фенола в концентрации 300 мг/л.

Проведенные исследования морфологических, культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов не позволили нам точно отнести их к классу *Fungi imperfecti*, группе «черные дрожжи».

Известно, что «черные дрожжи» тесно связаны с водой и менее распространены в других экосистемах [11]. По-видимому, не случайно нами была выделена именно эта группа микроорганизмов, так как при исследовании микрофлоры западного побережья оз. Байкал, являющегося одной из наиболее продуктивных зон его, установлено, что дрожжи встречаются постоянно, как в песчаных грунтах, так и в поверхностном слое водной толщи [10].

Даже в небольшой выборке клонов, выделенных из природной популяции микроорганизмов, обнаружена значительная вариабельность по ряду признаков. Это свидетельствует о высокой естественной изменчивости, имеющей место в природной популяции «черных дрожжей».

Для первичной оценки характера выживаемости и изменчивости «черных дрожжей» нами был выбран штамм R-11, характеризующийся повышенной чувствительностью к фенолам.

Исследование влияния N-НММ и промстоков БЦБК на выживаемость клеток штамма R-11. При планировании токсико-генетических экспериментов, как правило, предполагается постановка двух контрольных вариантов: «нулевого» с отсутствием агента, способного вызывать токсико-генетические эффекты, и «положительного». В последнем случае используют агент с высокой активностью и известным спектром действия. В результате такого тактического приема оказывается возможным не только говорить о том, обнаружены или не обнаружены эффекты интересующего агента, но также характеризовать уровень учитываемых эффектов количественно, по сравнению с действием агента, используемого в качестве «положительного» контроля.

В серии работ по оценке токсико-генетических эффектов сточных вод сульфат-целлюлозного производства, выделенных в лаборатории токсико-генетики НИИ биологии, в качестве положительного контроля использовали классический мутаген N-НММ. При этом изучали действие низких концентраций мутагена, сравнимых с концентрациями компонентов сточных вод.

В обсуждаемых ниже экспериментах исследовали действие нитрозометилмочевины и нативных промстоков на выживаемость клеток штамма R-11 «черных дрожжей» и штамма 15В-П4 дрожжей-сахаромикетов при экспозиции 3 ч. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Анализ данных показывает, что при 3-часовой экспозиции с увеличением концентрации мутагена N-НММ выживаемость клеток штамма R-11 снижается незначительно. Максимальный эффект N-НММ выявлен при концентрации 1000 мг/л (погибает 27,3% клеток). Большую чувствительность к возрастанию концентрации мутагена обнаруживает штамм 15В-П4. Для максимальной концентрации выявлено достоверное ($P < 0,05$) различие по выживаемости между штаммом R-11 и

гаплондом 15В-П4. Выживаемость клеток штамма R-11 под действием нативных промстоков в данном опыте не отличалась от таковой в контроле. Промстоки незначительно влияли на выживаемость клеток штамма 15В-П4. Наиболее токсичными оказались стоки, взятые 22 августа 1979 г., под действием которых погибло до 21,6% клеток. Следует отметить, что данные по выживаемости дрожжей штамма 15В-П4 при действии нативных промстоков в течение 3 ч хорошо согласуются с данными, полученными другими авторами, которые показали, что при этой экспозиции в среднем гибнет $20,97 \pm 4,30\%$ клеток [8]:

Таблица 2

Выживаемость штаммов дрожжей при действии N-НММ и нативных промстоков Байкальского ЦБК, %

Агент	Концентрации, мг/л. и дата взятия пробы	Штамм	
		R-11	15В-П4
N-НММ	10	$86,6 \pm 18,80$	$92,9 \pm 18,10$
	100	$79,0 \pm 11,63$	$78,5 \pm 3,04$
	1000	$72,7 \pm 9,75$	$33,1 \pm 3,37$
н-н	22 VIII 1979	102,5	78,4
	23 VIII 1979	101,5	106,0
	5 X 1979	106,4	92,5
$\bar{X} \pm m$		$103,5 \pm 1,49$	$92,3 \pm 7,97$
Контроль		100,0	100,0

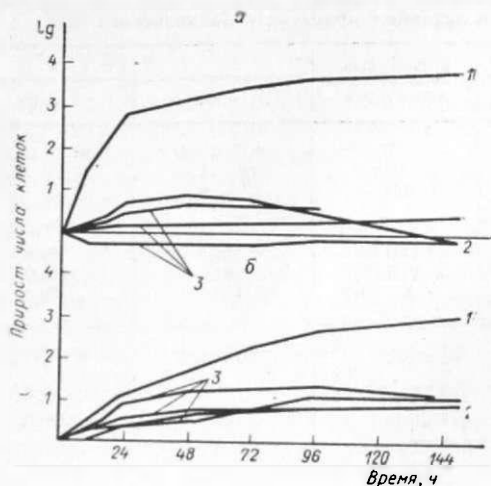
Таким образом, при кратковременной обработке нативные промстоки сульфат-целлюлозного производства не оказывали токсичного действия на клетки штамма R-11 «черных дрожжей». При обработке супермутатеном N-НММ в концентрации, сравнимой с концентрациями токсических веществ, содержащихся в сточных водах, наблюдали гибель 27,3% от числа обработанных клеток. Дрожжи-сахаромницы более чувствительны к действию исследуемых агентов по сравнению с «черными дрожжами».

При исследовании биологического действия химических соединений, поступающих в окружающую среду, необходимо учитывать тот факт, что мутагены циркулируют в ней в небольших количествах, но длительное время. С подобной ситуацией мы сталкиваемся при загрязнении водоемов сточными водами. Хотя при современном способе очистки сточных вод, налаженном на БЦБК, концентрации токсичных веществ, поступающих в водоем, довольно низкие, однако даже в этом случае остается не ясным, действительно ли они не обладают токсико-генетическими эффектами и не представляют опасности как для ныне живущих гидробионтов, так и для их потомств.

С целью выяснения характера действия сточных вод на эукариотические микроорганизмы, хронически подвергающиеся влиянию агента, была проведена серия экспериментов, в которых испытывали действие промстоков, взятых 5, 12 и 19 октября 1979 г., на штаммы R-11 и 15В-П4. Культуры выдерживали в сточных водах в течение 6 сут. Для контроля, позволяющего судить о развитии культур в оптимальных условиях, высевали клетки в жидкую среду УЕР. Нулевым контролем слу-

жил посев в дистиллированную воду. Результаты представлены графически на рисунке.

Кривые роста исследуемых штаммов в жидкой среде УЕР, где присутствуют все компоненты для нормального развития культур, характеризуются обычными лаг-фазой, экспоненциальной и стационарной фазами. Следовательно в опыт были взяты микроорганизмы с нормальной жизнеспособностью. Клеточный цикл штамма R-11 более длительный по сравнению со штаммом 15В-П4; время удвоения на 2-е сутки культивирования у штамма R-11 составило $6,8 \pm 0,39$ ч, а у 15В-П4 — $4,7 \pm 0,34$ ч. В воде и промстоках прирост числа клеток штаммов значительно ниже по сравнению с УЕР.



Прирост числа клеток штамма 15В-П4 (а) и штамма R-11 (б).

1 — в жидкой среде УЕР; 2 — в воде; 3 — в промстоках БЦБК.

При выдерживании штаммов в воде, где отсутствуют какие-либо факторы роста, культура дрожжей-сахаромикетов лизируется после нескольких актов почкования. Наблюдаемые остаточные деления, по-видимому, обусловлены наличием запаса органических веществ в материнских клетках (рисунок, а). Штамм R-11 «черных дрожжей» более устойчив к голоданию, чем штамм 15В-П4.

Экспонирование исследуемых микроорганизмов в промстоках в течение 6 сут не приводит к полной гибели клеток. Большую чувствительность к действию промстоков обнаруживает штамм 15В-П4 (рисунок, а). Наибольшей токсичностью обладали стоки, взятые 19 октября. Во всех трех пробах сточных вод прирост числа клеток штамма 15В-П4 был ниже, чем в нулевом контроле. Лаг-фаза в развитии данной культуры, инкубируемой в стоках, занимает от 18 до 24 ч, в то время как при культивировании на УЕР она почти отсутствует.

На штамм R-11 «черных дрожжей» промстоки не оказывали заметного действия, кривые прироста числа клеток, полученные для культур, экспонированных в сточных водах и дистиллированной воде, имеют общий характер наклона (рисунок, б). Промстоки от 19 октября по сравнению с водой незначительно стимулируют размножение штамма R-11. По-видимому, в такой композиции опытных и контрольных вари-

антов низкие концентрации органических компонентов протстоков могут служить источником питания и, таким образом, способны обеспечить лучшее развитие культуры, чем вода.

Суммируя результаты вышеописанных экспериментов, можно сделать вывод о том, что штамм R-11 обладает повышенной устойчивостью к исследованным агентам по сравнению с лабораторным штаммом 15В-П4 дрожжей-сахаромицетов.

Можно полагать, что высокую устойчивость штамма R-11 «черных дрожжей» к действию рассмотренных агентов обеспечивает комплекс многих факторов, в том числе содержание ДНК, химический состав клетки и клеточной стенки, состояние репарационных систем, пloidность и т. д. Для обсуждения вопроса о причинах высокой устойчивости «черных дрожжей» необходимо дальнейшее исследование кривых «доза — эффект», так как возможно, что эти микроорганизмы диплоидны или их клетки являются гетерокарионами. Представители группы несовершенных грибов, к которым можно отнести штамм R-11, по устойчивости к УФ и рентгеновскому облучению намного превосходят дрожжи-сахаромицеты [2].

Исследование изменчивости «черных дрожжей». В токсико-генетических экспериментах для количественной оценки мутационного процесса следует выбирать такой тип изменений, в отношении которых можно быть уверенными, что они являются результатом мутаций, а не модификаций. Нужно учитывать также возможность расщепления гетерокариона или индуцированной рекомбинации.

Чтобы иметь представление о возможном спектре изменчивости у штамма R-11, были проведены эксперименты, где одновременно с учетом выживаемости под действием N-НММ учитывали появление колоний, отличающихся от дикого типа по морфологическим признакам или ауksотрофным потребностям. Методом прямого печатания на селективные среды среди $2,5 \times 10^4$ проанализированных колоний штамма R-11, обработанных N-НММ, не было обнаружено ни одного ауksотрофного мутанта. Возможно, это обусловлено малой выборкой проанализированного материала, но, может быть, низкая вероятность появления ауksотрофов связана с видовой спецификой или с тем, что штамм R-11 является диплоидным или гетерокарионом. Тем более, что для гаплоидного штамма 15В-П4 дрожжей-сахаромицетов в вариантах этих же опытов выявлено от 0,03 до 0,30% ауksотрофных колоний после обработки клеток растворами N-НММ с концентрацией 100 и 1000 мг/л соответственно.

Более успешными оказались попытки выявить у штамма R-11 колонии с морфологическими изменениями. Нами выделено более двух десятков мутантов, индуцированных у штамма R-11 действием N-НММ, которые отличаются от дикого типа по пигментации, консистенции колоний и интенсивности развития мицелия. Все полученные мутанты можно разделить на следующие группы: а) черные (темнее исходных) мелкие, компактные, не образующие воздушного мицелия; б) черные, мелкие, компактные, с хорошо развитым мицелием; в) белые, крупные, гладкие, не образующие мицелия; г) белые, темнеющие при старении и образующие мицелий; д) беловатые, палевые, бледно-кремовые немикцелиальные; е) каштановые и темно-каштановые, выделяющие в среду пигмент, образующие мицелий при старении. Интересно отметить, что подобный спектр пигментных мутантов получен у ряда других представителей класса несовершенных грибов [6]. Некоторые из вышеперечисленных мутантов с нарушенным синтезом пигмента оказались нестабильными по этому признаку: были обнаружены мозаичные колонии, при клонировании которых выявлялись белые и черные субклоны. Ча-

стота появления белых мутантов при обработке клеток N-НММ с концентрацией 1000 мг/л составила $6,6 \times 10^{-4}$. В контрольных вариантах опытов при анализе $2,0 \times 10^6$ колоний штамма R-11 не обнаружено ни одного такого мутанта. Наиболее вероятной причиной появления признака «отсутствия пигментации» (белые колонии) является мутирование по генам, контролирующим какие-то этапы в процессе синтеза пигмента. У выделенных «белых» мутантов этот признак сохраняется в ряду поколений при пересеве, стабильно проявляется на разных средах.

В серии предварительных экспериментов по изучению изменчивости у дрожжей при длительной экспозиции (6 сут) в промстоках у штаммов 15В-П4 *Saccharomyces cerevisiae* и R-11 «черных дрожжей» не обнаружено ауксотрофных мутантов, а также мутантов с измененной окраской колоний. У штамма R-11 не отмечали появления мицелиальных форм. Однако в данных опытах с длительной экспозицией клеток в промстоках для штаммов 15В-П4 и R-11 характерно появление «карликовых» колоний. У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* они были идентифицированы как мутанты с дыхательной недостаточностью. Природа микроколоний штамма R-11 не выяснена. В литературе отмечались случаи индукции карликовых мутантных клонов у ряда микроорганизмов под действием химических мутагенов и ионов тяжелых металлов [13, 7]. Вполне возможно, что выявленные нами у штамма R-11 мелкие колонии возникают за счет нарушения механизма клеточного деления.

Для решения задач, связанных с объективной оценкой биологических и генетических последствий загрязнения водоемов, необходимы модели, разработанные на представителях гидробионтов. Эукариотические микроорганизмы наиболее удобны для разработки таких моделей. Во-первых, они имеют строение клетки, сходное с таковым у высших организмов. Во-вторых, не требуют особых затрат и удобны в постановке токсико-генетических опытов в лабораторных условиях. К тому же эукариотические микроорганизмы широко распространены в водоемах, занимают определенное место в их экосистемах, играют не последнюю роль в процессах самоочищения и являются непосредственным объектом действия антропогенных факторов, попадающих в водоемы.

С целью создания токсико-генетической модели на природном гидробионте нами были выделены из оз. Байкал штаммы «черных дрожжей». Проведенные эксперименты по изучению выживаемости и изменчивости одного из выделенных штаммов (R-11) позволили установить, что этот штамм является более устойчивым к действию супермутагена N-НММ и к действию промстоков сульфат-целлюлозного производства по сравнению со штаммом 15В-П4 *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, что у штамма R-11 действием N-НММ индуцируются пигментные мутанты с различными нарушениями в синтезе черного пигмента. Возможно появление мицелиальных форм. Выделенные мутанты легли в основу генетической коллекции и используются в исследовании биологии и генетики «черных дрожжей». Интересен факт индукции карликовых мутантов при воздействии на штамм R-11 сточными водами сульфат-целлюлозного производства. В дальнейших исследованиях предлагается выяснить причины их появления. Возможно, данный признак наряду с признаком нарушения синтеза пигмента будет использован для оценки частоты возникновения индуцированных изменений под действием антропогенных факторов.

Summary

We have isolated from Bajkal lake the strains of "black yeast" and used them in genotoxicological experiments. This yeast was shown to be more resistant to lethal

action of N-NMU and waste materials from a paper production industry than yeast strain 15V-P4 *Saccharomyces cerevisiae*. We obtained morphological mutants of black yeast strain R-11 induced by N-NMU. Waste materials induced only one type of morphological mutants — dwarf mutants in R-11 strain.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ваулина Э. Н., Анисеева И. Д., Коган И. Г. Индуцированный мутагенез и селекция хлореллы. М., 1978. 84 с.
2. Захаров И. А., Кривинский А. С. Радиационная генетика микроорганизмов. М., 1972. 195 с.
3. Захаров И. А., Кожин С. А., Кожина Т. Н., Федорова И. В. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромисетов. Л., 1976. 112 с.
4. Захаров И. А., Ковальцова С. В., Марфин С. В. Штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для изучения индуцированного мутагенеза и рекомбинации. — Генетика, 1979, т. 15, № 1, с. 41—48.
5. Инге-Вечтомова С. Г. Идентификация некоторых групп сцепления у Петергофских генетических линий дрожжей. — Генетика, 1971, т. 7, № 9, с. 113—124.
6. Касьяненко А. Г., Портенко Л. Г. Генетика возбудителя вилта хлопчатника *Verticillium dactyliae* Kleb. Сообщение I. Генетическое маркирование физиологических рас *Verticillium dactyliae* Kleb. — Генетика, 1979, т. 15, № 5, с. 812—822.
7. Коган И. Г., Анисеева И. Д. О природе мутантов хлореллы. — Генетика, 1973, т. 9, № 12, с. 76—83.
8. Павленко В. В., Путинцева Л. А. Определение токсичности и мутагенности промстоков сульфат-целлюлозного производства на генетических моделях. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1979, № 8, с. 62—70.
9. Плохинский Н. А. Биометрия. М., 1970. 368 с.
10. Родина А. Г. Бактерии в продуктивности каменистой литорали озера Байкал. — Тр. проблем. и темат. совещ. Зоол. ин-та АН СССР. Л., 1954, вып. 2, с. 45—52.
11. Родина А. Г. Дрожжевые грибки в рыболовных прудах и их пищевое значение. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1960, № 5, с. 14—19.
12. Роуз Э. Химическая микробиология. М., 1971. 294 с.
13. Хропова В. И. Изменчивость *Chlorella vulgaris* Beijer., индуцированная N-нитрозометилмочевниной. — В кн.: Супермутagens. М., 1966. 190 с.
14. Фонштейн Л. М., Калинин Л. М., Полухина Г. Н., Абилов С. К., Шапиро А. А. Тест-система оценки мутагенной активности загрязнителей среды на *Salmonella*. Методическое указание. М., 1977. 52 с.

ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННЫХ МЕТАБОЛИТОВ САМЦОВ ДОМОВОЙ МЫШИ НА ПРОЦЕСС КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ В ГЕНЕРАТИВНОЙ ТКАНИ МОЛОДЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОДНОКРАТНЫХ И МНОГОКРАТНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Р. И. ЦАПЫГИНА, Е. В. ДАЕВ, С. Н. НОВИКОВ

Одним из актуальных вопросов экологии является проблема идентификации факторов среды, влияющих на рост и развитие организма. Особое значение имеют факторы биогенного происхождения, изменяющие зоосоциальное поведение, морфологические и эндокринологические характеристики животных [3]. Есть основания предполагать, что ряд веществ, присутствующих в экскреторных продуктах домовых мышей (феромоны), эффективно действует на других особей того же вида [6]. В зависимости от пола, физиологического состояния, зоосоциального ранга и, по-видимому, генотипа как донора, так и реципиента, эти вещества могут вызывать различные нейроэндокринные сдвиги и, таким образом, влияя на функционирование организма как составной части популяции, выступать в качестве универсального хемокоммуникационного механизма существования последней как единого целого. Этот вы-